

## ИЗУЧЕНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ТОКСИНА VSTx1 ИЗ ЯДА ПАУКА С ПОТЕНЦИАЛ-ЧУВСТВИТЕЛЬНЫМ ДОМЕНОМ КАЛИЕВОГО КАНАЛА KvAP МЕТОДАМИ ЯМР-СПЕКТРОСКОПИИ И МОЛЕКУЛЯРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ

<sup>1,2</sup>Петросян Н.С., <sup>2</sup>Чугунов А.О., <sup>2</sup>Парамонов А.С., <sup>2</sup>Арсеньев А.С.,  
<sup>1-3</sup>Ефремов Р.Г., <sup>1,2</sup>Шенкарев З.О.

<sup>1</sup> Московский физико-технический институт, г. Долгопрудный, Моск. обл., Россия

<sup>2</sup> Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова,  
Москва, Россия

<sup>3</sup> Высшая школа экономики, Москва, Россия

<sup>1,2</sup>Петросян Н.С.,  
<sup>2</sup>Чугунов А.О.,  
<sup>2</sup>Парамонов А.С.,  
<sup>2</sup>Арсеньев А.С.,  
<sup>1-3</sup>Ефремов Р.Г.,  
<sup>1,2</sup>Шенкарев З.О.  
<sup>1</sup> Московский физико-технический институт  
<sup>2</sup> Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова  
<sup>3</sup> Высшая школа экономики

Потенциал-чувствительные  $K^+$  калиевые каналы (Kv) играют важную роль в механизмах клеточного возбуждения и распространения нервного импульса. Токсин VSTx1 из яда паука *Grammostola spatulata* ингибирует инактивацию калиевого канала KvAP из археобактерии *Aeropyrum pernix* путем блокирования его потенциал-чувствительного домена (ПЧД). Токсин связывается с ПЧД в его деполаризованной (*Up*) форме и тормозит возвращение ПЧД в гиперполяризованное (*Down*) состояние.

В работе взаимодействие между токсином VSTx1 и ПЧД калиевого канала KvAP (ПЧД-KvAP) в *Up*-конформации изучали методами ЯМР-спектроскопии и молекулярного моделирования. ЯМР-исследование показало, что токсин связывается с поверхностью мицелл DPC/LDAO (2:1) с участием ярко выраженного гидрофобного участка, окруженного положительно заряженными остатками. Однако результаты молекулярной динамики (МД) с использованием мембран различного липидного состава (POPC/POPG 3:1 и POPC), а также компьютерное моделирование методом Монте-Карло в неявно заданной мембране указали на наличие нескольких потенциальных областей взаимодействия пептид/мембрана. Во всех случаях различные сайты связывания токсина с мембраной были сформированы гидрофобными и положительно заряженными остатками.

Моделирование взаимодействия между токсином VSTx1 и ПЧД-KvAP проводили с применением белок-белкового докинга и МД. Кластерный анализ конформаций, полученных в ходе расчетов МД токсина в воде и ПЧД в липидном бислое, позволил получить 11 различных структур VSTx1 и 19 структур ПЧД-KvAP: комбинация их в докинге служит для учета внутримолекулярной подвижности молекул-партнеров. 11×19 Расчеты белок-белкового докинга (алгоритм ZDOCK) дали 20 000 возможных решений комплекса. Полученные структуры были ранжированы с использованием нескольких критериев: 1) экспериментальных данных ЯМР, 2) числа «благоприятных» контактов в комплексах и 3) степени комплементарности гидрофобных/гидрофильных участков поверхностей взаимодействующих молекул. Одновременное применение всех «фильтров» позволило сократить число решений докинга до двух. Расчеты МД (250 нс) показали, что только одна из полученных структур стабильна (RMSD = 0.25 ± 0.05 нм). В полученном комплексе VSTx1 взаимодействует с трансмембранными спиралями S1 и S4 ПЧД-KvAP. При этом N-концевой участок молекулы токсина взаимодействует с петлей S1-S2 домена, тогда как C-концевой участок связывается с ПЧД в области спирали S4. Следует отметить, что в *Down*-конформации ПЧД спираль S4 погружена в мембрану и недоступна для взаимодействия с токсином.

Суммируя полученные результаты, сделан вывод о возможном механизме действия VSTx1 на ПЧД канала KvAP. Токсин связывается с липидным бислоем и формирует комплекс с ПЧД в области петли S1-S2. После деполаризации мембраны и перехода ПЧД в *Up*-конформацию токсин связывается со спиралью S4, блокируя таким образом ПЧД в деполаризованном состоянии.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 14-24-00118). Расчеты проводили с использованием вычислительных ресурсов суперкомпьютерного Центра «Политехнический» в Санкт-Петербургском Политехническом Университете.